

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ENGENHARIA QUÍMICA
CURSO DE BACHARELADO EM ENGENHARIA QUÍMICA

FELIPE ABRANCHES POIATI

**OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS A PARTIR DA CASCA DE SOJA
PELO MÉTODO ENZIMÁTICO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PONTA GROSSA

2019

FELIPE ABRANCHES POIATI

**OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS A PARTIR DA CASCA DE SOJA
PELO MÉTODO ENZIMÁTICO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel, em Engenharia Química, do Departamento Acadêmico de Engenharia Química, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Orientador: Profa. Dra. Rosilene Aparecida Prestes

PONTA GROSSA

2019



TERMO DE APROVAÇÃO

**OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS A PARTIR DA CASCA DE SOJA PELO
MÉTODO ENZIMÁTICO.**

por
FELIPE ABRANCHES POIATI

Monografia apresentada no dia 28 de Junho de 2019 ao Curso de Engenharia Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Ponta Grossa. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado com restrições.

Prof. Dr. Rosilene Aparecida Prestes
(UTFPR)
Orientadora

Prof. Dr. Luis Antônio Pinheiro
(UEPG)

Mestranda Emellyn Gabriela Ioris
(UTFPR)

Profa. Dra. Juliana de Paula Martins
Responsável pelo TCC do Curso de Engenharia Química

“O Termo de Aprovação encontra-se na Coordenação do Curso de Engenharia Química”.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora Profa. Dr. Rosilene Aparecida Prestes, pelo conhecimento e ensinamentos que me auxiliaram neste trabalho.

A Secretaria do Curso, pela cooperação.

Agradeço também a toda minha família e amigos que sempre me apoiaram nos momentos de superação.

RESUMO

POIATI, FELIPE. **Obtenção de nanopartículas à partir da casca de soja pelo método enzimático**. 2019. 26 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Engenharia Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2019.

Este trabalho teve como objetivo obter nanopartículas a partir da casca de soja como matéria-prima, utilizando o método enzimático para realizar a hidrólise das partículas, desta forma, esse subproduto das extratoras de óleo de soja ganharia um fim mais lucrativo. Foram analisadas amostras de casca de soja, cedidas pela empresa Cargill CASC SA/ Ponta Grossa-PR, que sofreram hidrólise por diferentes períodos de tempo, e em paralelo a esse estudo, também foi realizado a seleção e isolamento de microrganismos degradadores de celulose, retirados diretamente da casca, sendo plaqueados em meio mineral contendo carboximetilcelulose. Dentre as análises realizadas, estão o teste de pH, análise gravimétrica, potencial zeta e índice enzimático. Os melhores resultados foram encontrados nas amostras que ficaram expostas à hidrólise por 30 e 40 dias.

Palavras-chave: Nanotecnologia. Soja. Microrganismos. Hidrólise. Nanopartículas.

ABSTRACT

POIATI, FELIPE. **Obtaining nanoparticles from the soybean hull by the enzymatic method**. 2019. 26 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Engenharia Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2019.

This work aimed to obtain nanoparticles from the soybean shell as raw material, using the enzymatic method to perform the hydrolysis of the particles, in this way, this by-product of the soybean oil extractors would gain a more lucrative end. Several samples of soybean hulls were obtained from Cargill CASC SA / Ponta Grossa-PR, which underwent hydrolysis for different periods of time. In parallel to this study, the selection and isolation of cellulose degrading microorganisms was also carried out, extracted directly from the shell, being plated in mineral medium containing carboxymethylcellulose. Among the analyzes performed are the pH test, gravimetric analysis, zeta potential and enzymatic index. The best results were found in the samples that were exposed to hydrolysis for 30 and 40 days.

Keywords: Nanotechnology. Soy. Microorganisms. Hydrolysis. Nanoparticles.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Exemplos das diferentes estruturas de nanocompósitos.....	10
Figura 2 - Ilustração das regiões que compõem a estrutura dos nanocristais de celulose.....	11
Figura 3 - Ação das celulases sobre a molécula de celulose.....	14
Figura 4 – Microrganismos da casca de soja degradadores de celulose em meio mineral com carboximetilcelulose.....	24
Figura 5 – Placas de Petri com diluições variadas das amostras da casca de soja em meio mineral com carboximetilcelulose.....	25
Figura 6 - Microrganismos da casca de soja degradadores de celulose em meio mineral com carboximetilcelulose.....	25
Figura 7 - Microrganismo isolado da casca de soja em meio mineral com carboximetilcelulose com coloração preta.....	26
Figura 8 – Microrganismo isolado da casca de soja em meio mineral com carboximetilcelulose com coloração verde-clara.....	27
Figura 9 Microrganismo isolado da casca de soja em meio mineral com carboximetilcelulose com coloração verde-escura.....	27
Figura 10 – Comparação dos cadinhos com a parte líquida das amostras antes e após a Gravimetria.....	29
Figura 11 – Figura 11 - Microrganismo desenvolvido em placa de Petri no meio mineral com carboximetilcelulose para determinação do índice enzimático: (A) sem indicador e (B) com o uso do indicador Vermelho do Congo.....	31
Figura 12 – Placas Petri com meio mineral apresentando diferentes tipos de microrganismos com o indicador Vermelho do Congo.....	32

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

Tabela 1 – Composição química e energética e diâmetro geométrico médio da casca de soja moída em peneira de 2,5mm (matéria natural).....	16
Tabela 2 – Resultados da análise gravimétrica em triplicata das amostras da casca de soja de 30 e 40 dias de hidrólise.....	27
Tabela 3 – Valores de pH, pH médio entre as triplicatas e desvio padrão entre as triplicatas das amostras de 25, 30 e 40 dias de hidrólise.....	28
Tabela 4 – Valores dos Índices Enzimático dos três microrganismos analisados....	29
Tabela 5 – Resultados do potencial zeta e tamanho das partículas das amostras da casca de soja de 30 e 40 dias de hidrólise.....	33
Gráfico 1 – Potencial zeta em amostra da casca de soja após 30 dias de degradação por microrganismos com diluição de 100 vezes.....	31
Gráfico 2 – Intensidade e tamanho de partículas em amostra de casca de soja após 30 dias de degradação por microrganismos com diluição de 100 vezes.....	32
Gráfico 3 – Potencial zeta em amostra da casca de soja após 40 dias de degradação por microrganismos com diluição de 100 vezes.....	32
Gráfico 4 – Intensidade e tamanho de partículas em amostra de casca de soja após 40 dias de degradação por microrganismos com diluição de 100 vezes.....	33

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	9
2.1 NANOTECNOLOGIA	9
2.2 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA	13
2.3 CASCA DE SOJA	15
2.4 TESTES ANALÍTICOS.....	17
2.4.1 Potencial zeta	17
2.4.2 PH (Potencial Hidrogeniônico)	18
2.4.3 Teste gravimétrico	18
3 MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1 MATERIAL.....	20
3.2 MÉTODOS	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1 CRESCIMENTO E ISOLAMENTO DOS MICRORGANISMOS.....	24
4.2 TESTE GRAVIMÉTRICO.....	28
4.3 ANÁLISE DO PH	29
4.4 ÍNDICE ENZIMÁTICO.....	30
4.5 POTENCIAL ZETA	32
5 CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIAS	37

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, com o intuito de evitar gastos ou até mesmo gerar lucros, as indústrias estão buscando constantemente métodos alternativos de utilização dos seus subprodutos e resíduos gerados nos processos. Além disso, segundo Tibolla (2014), desde 2009, a utilização das fibras naturais vem sendo incentivada no Brasil por políticas governamentais, por apresentarem uma enorme variedade de fontes disponíveis, principalmente as de origem vegetal.

A produção mundial de soja para a safra 2018/2019 será de 354,54 milhões de toneladas segundo uma estimativa feita pelo Departamento de Agricultura Americano – USDA. O Brasil possui uma grande produção de soja, nesta safra, ele se torna o maior produtor desse grão ultrapassando os Estados Unidos. No entanto, essa produção sem precedentes, tem como resultado uma quantidade muito grande de resíduos, como por exemplo, a casca de soja que apresenta de 7% a 8% do peso do grão (RESTLE et al., 2004; CONAB, 2019).

As indústrias produtoras de óleo de soja estão destinando as cascas para o setor agropecuário, aonde é adicionado à ração de animais ruminantes, para complemento alimentar. Deste modo, essas empresas conseguem dar um destino a grande quantidade de resíduo. Em contrapartida esse processo de destinação gera uma fração pequena ou quase nula de lucros (MOREIRA et al., 2009). Assim, a grande questão analisada neste projeto foi como dar um destino mais lucrativo à casca de soja de uma maneira sustentável.

Como o uso de nanopartículas derivadas de fibras naturais está em uma grande crescente no Brasil e no mundo, a alternativa escolhida foi utilizar a casca de soja, que é rica em fibras, como matéria-prima para a obtenção de tais substâncias.

Portanto, neste projeto foram realizados experimentos utilizando microrganismos para degradar a casca da soja com o intuito de obter nanopartículas, utilizando o método de hidrólise enzimática. Para isso,

primeiramente, foram selecionados e isolados os microrganismos responsáveis pela hidrólise da parede celular, e determinadas as melhores condições de produção das nanopartículas, tudo isso visando obter o maior rendimento. Por fim, o produto obtido foi caracterizado por técnicas instrumentais.

O método enzimático foi escolhido pelo fato de não ser comercializado ainda e não existir muitos estudos até o momento. Além disso, ele fornece condições mais suaves de hidrólise, não modifica a superfície da celulose e não produz resíduos químicos prejudiciais ao meio ambiente, se diferenciando do método ácido (TIBOLLA et al., 2014).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 NANOTECNOLOGIA

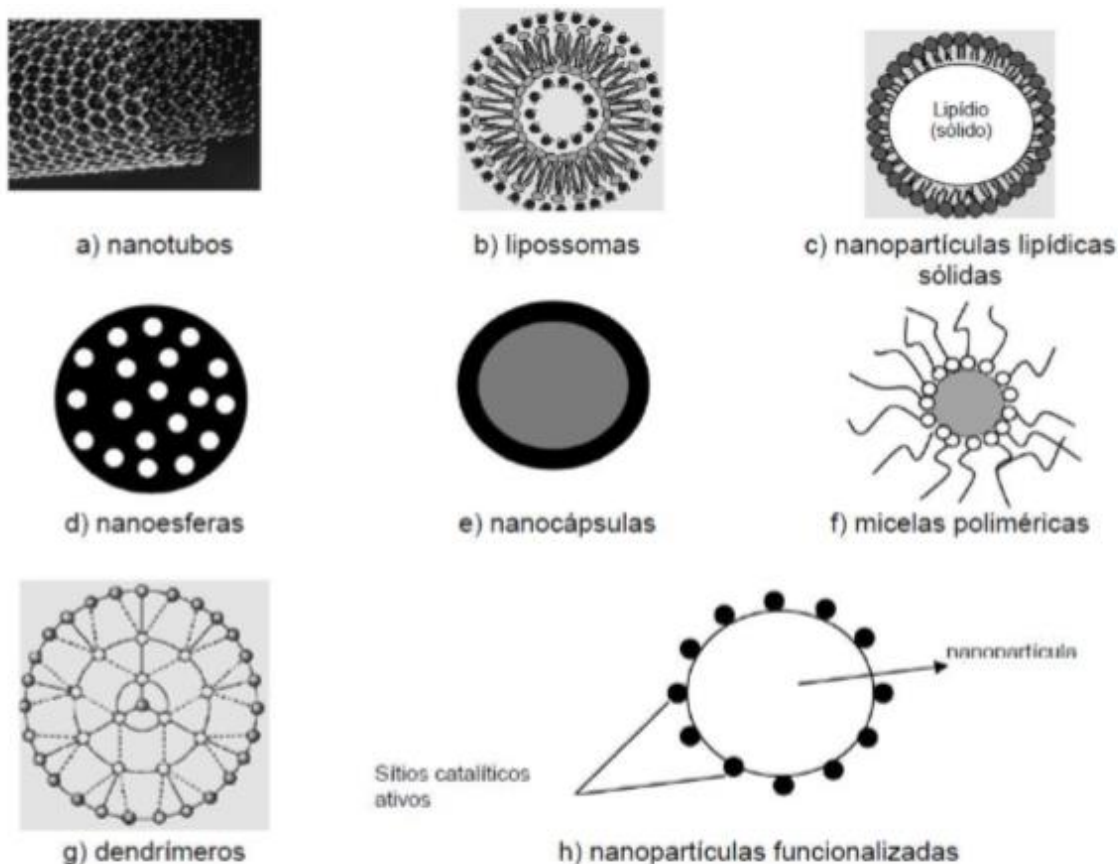
O engenheiro japonês Norio Taniguchi (1974), introduziu o termo nanotecnologia referindo-se a uma nova tecnologia que ultrapassava a engenharia em microescala. Atualmente, esse termo é mais equiparado à formulação de Eric Drexler (1981), que corresponde à metodologia de processamento envolvendo a manipulação átomo a átomo. Já a nanociência, é o estudo de sistemas físicos que produzam informações significativas e suas manipulações. Tudo isso dentro da escala conhecida como nano (10^{-9} m = 1 nm), aonde a partícula não ultrapassa 100 nm em comprimento em pelo menos uma direção. Deste modo, a caracterização, produção e aplicação de sistemas e componentes em nanoescala, é o foco da nanotecnologia (FERREIRA; RANGEL, 2009).

É definido que, as partículas com a estrutura em escala nanométrica apresentam, no mínimo, uma de suas dimensões em tamanho nanométrico, e são chamadas de nanopartículas. Essas partículas apresentam novas propriedades quando comparadas as micro ou macropartículas, por exemplo, a tolerância à temperatura, a variedade de cores, as alterações da reatividade química. Além da condição relacionada ao tamanho das partículas, para um material ser considerado nanotecnológico é imprescindível à utilização das propriedades citadas anteriormente. Ou seja, não basta ter as dimensões nanométricas, tem que apresentar as propriedades características dos nanomateriais (FERREIRA; RANGEL, 2009).

A essência da nanotecnologia consiste na habilidade de se trabalhar em nível atômico, molecular e macromolecular a fim de criar materiais, dispositivos e sistemas com propriedades e aplicações fundamentalmente novas. Os blocos de construção são os átomos e moléculas, ou um conjunto deles tais como nanopartículas, nanocamadas, nanofios ou nanotubos. Dessa forma, a nanotecnologia permite ao homem alcançar escalas além da sua limitação natural de tamanho e trabalhar diretamente na construção dos blocos de matéria. (FERREIRA; RANGEL, 2009, p.1861)

É possível classificar os nanocompósitos em três categorias, analisando o número de dimensões das partículas que estão na escala nanométrica. Por exemplo, quando as três dimensões se enquadram nessa escala, são denominadas nanopartículas isodimensionais, como as nanopartículas esféricas de sílica, as semicondutoras, entre outras. Quando se trata de duas dimensões na escala nanométrica, possuindo uma estrutura esticada, têm-se os nanotubos, um exemplo são os nanotubos de carbono, que estão sendo muito utilizados na indústria para reforçar alguns materiais. Por fim, quando apenas uma dimensão possui tamanho nanométrico, têm-se as nanopartículas de cristais, que são vistos em formato de folhas. A Figura 1 possui alguns desses nanocompósitos citados acima (ALEXANDRE; DUBOIS, 2000).

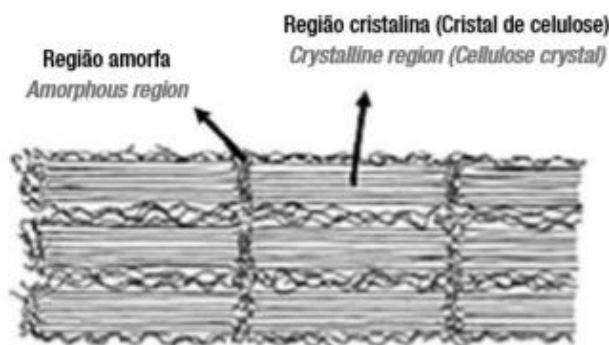
Figura 1 – Exemplos das diferentes estruturas de nanocompósitos.



Fonte: Adaptado de Rawat et al., (2006).

De acordo com Almeida et al. (2015, p.90), “as nanopartículas de celulose podem existir de duas formas distintas como: microfibrilas e os *whiskers*, que são partes cristalinas também conhecidas como nanocristais.” Os nanocristais possuem apenas uma dimensão na escala nanométrica, segue um exemplo na Figura 2.

Figura 2 – Ilustração das regiões que compõem a estrutura dos nanocristais de celulose.



Fonte: Adaptado de Tamen et al. (2005).

Essas nanopartículas, quando adicionadas a alguns polímeros melhoram suas propriedades finais em sistemas multifuncionais, aumentando a tortuosidade do material e conduzindo a processos de difusão mais lentos. No entanto, é necessário o uso de surfactantes aos nanocristais para ser realizada a incorporação, com o intuito de aumentar a adesão interfacial. Devido às melhorias citadas, esses polímeros vêm apresentando alta aplicabilidade na indústria de embalagens, principalmente de alimentos (ALMEIDA et al., 2015).

Segundo Sekhon (2014), outra aplicação das nanopartículas é vista na produção de fertilizante. Os nanocompósitos, principalmente os que são à base de metais ou carbono estão sendo estudados por apresentarem alta capacidade de absorção, translocação, acumulação, e especialmente, pela sua influencia positiva no desenvolvimento e crescimento de diversos tipos de plantas. Analisando algumas culturas, (milho, trigo, azevém, alfafa, soja, colza, tomate, rabanete, alface, espinafre, cebola, abóbora e pepino), foram observadas algumas melhorias na morfologia, como o aumento da taxa de germinação, além do maior comprimento da raiz e do broto. Observando o Quadro 1, é possível mensurar a variedade de aplicações das nanopartículas em diversos setores produtivos.

Quadro 1 – Síntese das possíveis aplicações da nanotecnologia

Setor	Exemplos de aplicações
Indústria automobilística e aeronáutica	Fabricação de materiais mais leves, pneus mais duráveis, plásticos não inflamáveis e mais baratos.
Indústria química e de materiais	Produção de catalisadores mais eficientes, ferramentas de corte mais duras, fluidos magnéticos inteligentes.
Indústria eletrônica e de comunicações	Armazenamento de dados, em telas planas, aumento da velocidade de processamento.
Setor energético	Economia de energia ao utilizar materiais mais leves e circuitos menores, fabricação de células fotovoltaicas e fotoeletroquímicas, fabricação de dispositivos orgânicos emissores de luz, aplicações de nanotubos de carbono em células solares, fabricação de nanocatalisadores para produção de hidrogênio, produção de células a combustível, fabricação de nanomateriais para armazenagem de hidrogênio.
Setor de fabricação	Desenvolvimento de novos microscópios e instrumentos de medida, de ferramentas para manipular a matéria a nível atômico, de bioestruturas, etc.
Meio ambiente	Desenvolvimento de membranas seletivas para remover contaminantes ou sal da água, novas possibilidades de reciclagem, fabricação de nanocatalisadores mais eficientes e econômicos para conversão catalítica em escapamentos automotivos, fabricação de nanossensores para detecção de agentes tóxicos e vazamentos, fabricação de nanodispositivos para separação de gases, desenvolvimento de nanomembranas para purificação de água, dessalinização e desintoxicação, de nanossensores para detecção de contaminantes e agentes patogênicos, entre outros.

Fonte: Piscopo et al., (2014, p. 50).

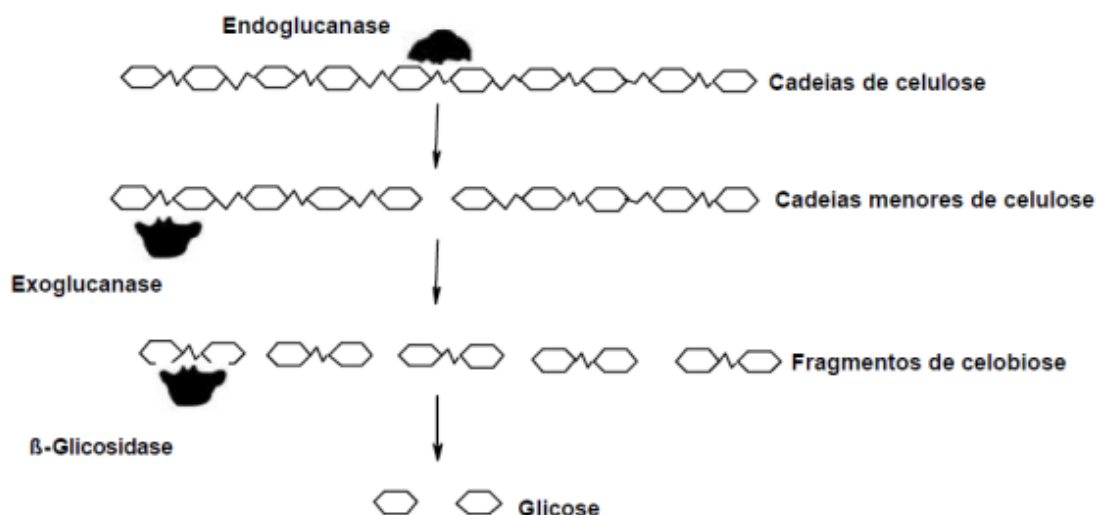
O mercado global de produtos de nanotecnologia em 2013 girava em torno de 22,9 bilhões de dólares segundo uma pesquisa recente, e saltou para cerca de 26 bilhões em 2014. É provável que este mercado alcance cerca de 64,2 bilhões até 2019, uma taxa de crescimento anual composta (CAGR) de 19,8% de 2014 para 2019 (BCC Research, 2014).

A partir dos avanços em nanotecnologia, é possível aprimorar as práticas agrícolas, com o aperfeiçoamento da conservação de matérias primas e produtos nas lavouras, além de melhorias na produção animal e na pesca. A indústria alimentícia obteve vários avanços com o uso das nanopartículas. As embalagens dos alimentos, por exemplo, apresentaram melhorias com a adição do material nanoparticulado, ficando mais resistentes e duradouras, além disso, novos produtos foram desenvolvidos com a exploração das nanopartículas (SEKHON, 2014).

2.2 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA

No método enzimático, as enzimas mais utilizadas na degradação de fibras são as xilanases e as celulases. Elas atacam as regiões de menor densidade e maior área de contato das fibras lignocelulósicas, chamadas de regiões amorfas, causando uma clivagem hidrolítica das ligações glicosídicas β -1,4 que estão presentes entre as moléculas de glicose que compõem a celulose. São consideradas enzimas hidrolíticas que agem como catalisador nos compostos de hemicelulose no interior das fibras vegetais, resultando na formação de nanofibras de celulose (TIBOLLA, 2014).

Figura 3 - Ação das celulases sobre a molécula de celulose.



Fonte: Adaptado de WRIGHT et al., (1988).

Para a produção de enzimas, são utilizadas grandes quantidades de fungos, de uma ou mais espécies. Os fungos são organismos eucariontes, aclorofilados, heterotróficos, a maioria deles são filamentosos e podem ser macro ou microscópicos. Na produção comercial de enzimas, o gênero *Aspergillus* é o fungo com maior destaque e já vem sendo usado à muitos anos para produção de enzimas extracelulares e ácido cítrico (FERNANDES, 2009).

O método mais conhecido e utilizado para a obtenção de nanopartículas, é o de hidrólise ácida, por resultar em um alto rendimento de degradação principalmente em hexoses e pentoses. O ácido mais utilizado é o Ácido Sulfúrico por ser mais barato e apresentar menor corrosão, em relação com os outros ácidos (OGEDA; PETRI, 2010).

A hidrólise enzimática possui várias vantagens quando comparada a hidrólise ácida, pelo fato que nesta segunda se utiliza grande quantidade de ácidos, que são prejudiciais ao meio ambiente e possuir uma hidrólise mais branda. Além disso, é um método muito mais barato, por não precisar de ligas caras no revestimento de canos e trocadores de calor (OGEDA; PETRI, 2010).

Atualmente, vários processos industriais empregam enzimas em diferentes meios, inclusive na presença de solventes orgânicos. Uma das principais vantagens na utilização de enzimas como catalisadores é a seletividade observada nas reações. Isto ocorre, devido à preferência elevada por um determinado substrato, ou seja, à capacidade de reconhecer a estrutura de moléculas, além de

permitir a execução de processos em condições mais suaves de reação com excelente controle e eficiência do processo (ANDRADE, T. C. C. et al, 2019, p. 312).

Na hidrólise enzimática, não há formação de subprodutos quando ocorre a quebra da celulose pelas enzimas celulasas, devido à especificidade das enzimas, o que resulta em um alto rendimento de açúcares fermentescíveis. No entanto, para obter-se uma alta conversão de celulose e rendimentos satisfatórios, é necessário grandes quantidades de enzimas, aumentando o custo do procedimento (CARVALHO, 2011).

2.3 CASCA DE SOJA

É estimado que na safra 2018/2019, o Brasil passe a ser maior produtor de soja no mundo, além de já ser o maior exportador desse grão, responsável por 48,60% de todas as exportações mundiais. Na safra de 2016/2017, o Brasil produziu aproximadamente 115 milhões toneladas de grãos de soja, que são utilizados para consumo nacional e também a maior parte desse montante é exportada para diversos países, com a China em destaque (CONAB, 2018).

A soja, por seu um grão com inúmeras finalidades, possui uma grande demanda no mercado mundial. O seu preço pode variar bastante, devido ao fato de ser determinado pela negociação do grão nas bolsas de mercadorias do mundo todo, sendo taxado por saca de soja (SILVA, 2004).

De acordo com Mulrhead (1993, apud SILVA, 2004), a casca de soja, um dos subprodutos gerados na extração do óleo de soja vem sendo muito utilizado na alimentação de diversos animais herbívoros, como por exemplo, os ovinos, caprinos e bovinos, devido à grande quantidade produzida e disponibilidade desse subproduto, sendo que segundo Fischer e Mühlbach (1999), a casca representa de 7 a 8% do peso do grão.

É possível classificar a casca de soja como um volumoso-concentrado, devido a sua função fisiológica de fibra vegetal e possui a disponibilidade de energia equivalente a um grão de cereal (3,01 Mcal energia digestível por quilograma de matéria seca) (MORAIS et al., 2006).

Analisando os resultados de Ipharraguerre et al. (2002), foram encontrados na casca de soja valores médios de 11,9% de proteína bruta e 67,2 de fibra em detergente neutro na matéria seca. A casca da soja possui 70% de parede celular em sua composição, apresentando alta degradabilidade, isso contribui muito para que não haja altas variações no pH e na produção de ácidos graxos voláteis, quando utilizada na complementação da alimentação do gado, otimizando o desempenho desses animais (SILVA,2004). Moreira et al. (2009) obteve os seguintes resultados da composição química da casca de soja e foram listados na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição química e energética e diâmetro geométrico médio da casca de soja moída em peneira de 2,5mm (matéria natural).

Item	Casca de soja
Matéria seca, %	88,85
Matéria orgânica, %	83,87
Energia bruta, Kcal/Kg	3.890
Proteína bruta, %	13,11
Solubilidade da proteína em KOH, %	66,44
Atividade ureática	0,20
Cálcio total, %	0,52
Fosforo total, %	0,29
Fibra bruta, %	33,09
Fibra bruta em detergente ácido, %	41,86
Fibra bruta em detergente neutro, %	55,94
Extrato etéreo, %	2,19
Diâmetro geométrico médio	522

Fonte: Moreira et al. (2009, p.2412).

2.4 TESTES ANALÍTICOS

2.4.1 Potencial zeta

O potencial zeta reflete o potencial de superfície das partículas o qual é influenciado pelas mudanças na interface com o meio dispersante, em razão da dissociação de grupos funcionais na superfície da partícula ou da adsorção de espécies iônicas presentes no meio aquoso de dispersão. Este parâmetro é determinado utilizando as técnicas de eletroforese (SCHAFFAZICK et al., 2003, p.730).

Quando obtido um valor de potencial zeta relativamente alto em módulo, é um grande passo para ter uma suspensão coloidal com boa estabilidade físico-química, pois isso significa grandes forças repulsivas agindo na suspensão, evitando a agregação das nanopartículas com colisões ocasionais (SCHAFFAZICK et al., 2003).

Estudos comparativos entre nanocápsulas, nanoesferas e nanoemulsão foram realizados para a proposição de modelos descritivos da organização destas nanopartículas. Calvo e colaboradores observaram os efeitos da composição das diferentes formulações sobre os valores do potencial zeta. Foi verificado que a presença da fase oleosa, nas nanocápsulas e nanoemulsões, conferiu a estas um potencial zeta mais negativo ($\zeta = -41,94$ mV e $\zeta = -42,32$ mV, respectivamente) em relação às nanoesferas ($\zeta = -16,33$ mV). Tendo em vista a semelhança dos resultados obtidos para nanocápsulas e nanoemulsões, os autores sugeriram que a camada polimérica ao redor das gotículas de óleo seria um delgado filme polimérico (SCHAFFAZICK et al., 2003, p.730).

Segundo Souza et al. (2012), é possível relacionar-se o potencial zeta com alguns parâmetros, tais como, o pH da suspensão, a composição da superfície do polímero analisado e a dos reagentes adicionados.

O potencial zeta das partículas em suspensão aquosa fornece informações sobre a carga de superfície das partículas, com isso é possível medir suas forças repulsivas eletrostáticas, indicando a estabilidade da suspensão. Um valor absoluto (em módulo) inferior à 25mV, indica que a suspensão não é estável e contém partículas agregadas, já suspensões com valor em módulo superior à 25mV possuem boa estabilidade (GOMES, 2018).

2.4.2 PH (Potencial Hidrogeniônico)

De acordo com Ferreira (2003), o pH é relação entre as concentrações de íons hidrogênio (H^+) e íons hidroxila (OH^-), podendo avaliar se uma solução apresenta acidez ou alcalinidade. O pH varia numa escala de 0 a 14, aonde uma solução é considerada neutra se possuir pH 7, considerada ácida se for abaixo de 7 e básica quando tem pH acima de 7.

O pH é um indicador muito importante no monitoramento de suspensões nanoparticuladas, analisando o pH em um período de tempo é possível saber o momento em que o polímero começa a se degradar. Isso se torna visível devido à algumas alterações no pH. Entretanto, a alteração do pH em uma pequena escala de tempo, pode ser atribuída à outros fatores, como por exemplo, a ionização de grupos carboxílicos que fazem parte da composição do polímero, ou então quando ocorre hidrólise (SCHAFFAZICK et al., 2003).

Quando se trata de nanoesferas, o pH é diretamente proporcional ao aumento do tamanho das nanoesferas, além disso, a velocidade de iniciação é aumentada devido à elevada quantidade de íons hidroxila. Entretanto, quando o pH aumenta muito e atinge um valor superior a 4, fica muito difícil de realizar o controle da velocidade da reação, trazendo características não desejadas as moléculas, como a amortização dos polímeros e nanoesferas com maiores dimensões. Deste modo, foi observado que reações de polimerização realizadas em meios de pH baixo possuem menor duração quando comparadas à reações em meios de pH mais elevados (SOUTO; SEVERINO; SANTANA, 2011).

2.4.3 Teste gravimétrico

O teste gravimétrico, também conhecido como gravimetria, consiste em determinar a concentração real de um ou mais analitos, retirando toda a umidade presente em uma amostra de composição química definida, disposta em um cadinho de porcelana. Deste modo, o cadinho e a amostra passam por uma pesagem inicial, com o auxílio de uma balança analítica, e após ficarem por 24 horas em uma estufa à $80^\circ C$ são pesados novamente para ser determinado o peso real sem umidade (MURITO; FINETE, 2010, p.242).

Segundo Gomes (2018), processo de secagem em estufa, utiliza como princípio o aquecimento para remoção de água. Conforme a água se evapora, ocorre a diminuição do volume da suspensão e conseqüentemente, as forças capilares aumentam em função da evaporação da água. Assim, acontece o aumento das forças intermoleculares e são formadas as ligações de hidrogênio, desenvolvendo uma rede contínua e um volume sólido de material.

Mesmo sendo um procedimento demorado e que envolve varias etapas, ele fornece resultados precisos e confiáveis. A análise gravimétrica também pode ser utilizada para validar os resultados obtidos por espectroscopia de fluorescência de raios-X (FRX), principalmente quando há dificuldades em se obter materiais de referência certificados com composições semelhantes às das amostras (GOMES, NETO, 2015, p.1).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

O objeto de estudo deste trabalho foi a casca de soja moída, obtida do processo de extração de óleo vegetal e cedida pela empresa Cargill, CASC SA/ Ponta Grossa-PR.

3.2 MÉTODOS

A pesquisa que foi realizada é caracterizada como exploratória, por se tratar de um campo pouco explorado e considerando os objetivos do projeto. Segundo Cooper e Schindler (2008, p.128) “os estudos exploratórios tendem a gerar estruturas soltas com o objetivo de descobrir futuras tarefas de pesquisa”. Na pesquisa em questão, a degradação das moléculas foi feita pelo método de hidrólise enzimática com a utilização de microrganismos.

Coleta de amostra para seleção e isolamento de microrganismos produtores de celulase

Inicialmente, foi definido que os microrganismos seriam coletados diretamente de amostras da casca de soja. Com as amostras coletadas, elas foram submetidas a uma diluição seriada, aonde uma alíquota de 25,0 g das amostras da casca foi tomada para preparação da primeira diluição (10^{-1}) em 225,0 mL de água ultrapura, e as preparações das diluições decimais subsequentes foram realizadas em tubos contendo 9,0 mL do mesmo diluente, onde foi acrescentado 1 mL da solução 10^{-1} , para obtenção da concentração 10^{-2} e 10^{-3} da amostra. Em seguida, plaqueadas em meio de cultura Carboximetilcelulose, para o crescimento dos microrganismos responsáveis por degradar a celulose presente na casca da soja. Posteriormente, os microrganismos foram isolados e armazenados individualmente. Deste modo, foi

possível realizar testes em cada tipo de microrganismo com o objetivo de determinar o mais eficiente (MARCHINI et al., 2009).

Em seguida, os microrganismos foram isolados e armazenados individualmente. Deste modo, foi possível realizar testes em cada tipo de microrganismo com o objetivo de determinar o mais eficiente.

Quando os microrganismos que foram utilizados, já estavam isolados, foi preparada uma amostra com os microrganismos inoculados no centro da placa com ágar, meio mineral e carboximetilcelulose, e permaneceram na estufa à 28° C durante 5 dias para realizar o crescimento dos mesmos. Com as colônias crescidas, as placas foram enviadas para uma estufa à 90° C por 24h para interromper o crescimento dos microrganismos.

Assim, foi possível determinar os diâmetros do halo e da colônia, com o auxílio da solução indicadora Vermelho do Congo, e calcular o índice enzimático (IE), pela equação (1), de cada espécie isolada.

$$IE = \frac{\text{diâmetro do halo}}{\text{Diâmetro da colônia}} \quad (1)$$

Segundo Hankin e Anagnostakis (1975, apud PEREIRA, 2012, p. 56) essa equação representa a relação entre o diâmetro médio do halo de degradação e o diâmetro médio da colônia. Aonde que os maiores IEs representam maior atividade enzimática.

Processo de produção de nanopartículas

A respeito da casca de soja, foi separada uma quantidade de aproximadamente 80g de amostra, e levada à estufa modelo SL 102 para secagem a 60°C por 24 horas, obtendo a matéria seca (MS). Após secagem as amostras foram pesadas individualmente em balança analítica modelo ML 204, anotando o peso inicial da amostra, aproximadamente 2 g. Cada amostra foi

inserida em Erlenmeyer de 250 mL, foi adicionada água ultrapura, e os frascos foram armazenados em estufas à 28° C, dando início a degradação com os próprios microrganismos da casca.

Depois de iniciada a degradação, as amostras foram analisadas, em triplicata, nos períodos de 24h, 48h, 72h, 5, 10, 15, 20, 25, 30 e 40 dias. Logo depois de cada tempo terminado, as amostras foram congeladas a temperatura de -4 °C para interromper o processo fermentativo. Com os tempos finalizados, as amostras foram descongeladas e centrifugadas em centrífuga modelo Himac CR21GII/Hitachi por 30 minutos aproximadamente. Foram armazenadas e congeladas novamente para futuras análises.

Caracterização das nanopartículas por técnicas instrumentais

Amostras foram submetidas à análise por potencial zeta pelo equipamento Nano Zs90/ Malvern, que analisa o espalhamento dinâmico de luz com um ângulo de 90 graus determinando os tamanhos das partículas. O dispersante usado foi a água à 25° C, utilizando os índices de refração do dispersante e da amostra de 0 a 3. Assim foi determinado se houve ou não formação de nanopartículas nas amostras estudadas. As análises foram realizadas na Universidade Estadual de Ponta Grossa, no C-labMU laboratório de multiusuários.

Em paralelo ao teste de potencial zeta também foi realizado o teste de pH em um phmetro PHS - 3C/ Medbio com o objetivo de determinar a faixa de pH das suspensões, comparando com a literatura e determinar as melhores condições para a produção de nanopartículas. Além disso, foi realizada a análise gravimétrica, aonde foram inseridos cadinhos com a parte líquida das amostras de 30 e 40 dias em estufa à 80° C por 24h, com o intuito de retirar totalmente a umidade das amostras obtendo a massa real utilizando as Equações 2 e 3.

$$\text{Concentração} = \frac{\text{Massa Seca}}{\text{Volume submetido à secagem}} \quad (2)$$

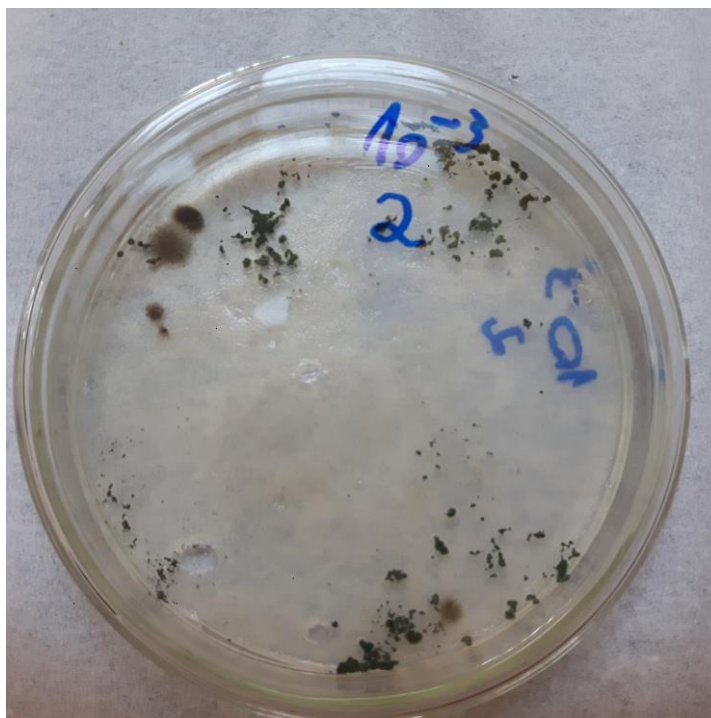
$$\text{Rendimento} = \frac{\text{Concentração}}{\text{Massa Úmida}} \times 100 \quad (3)$$

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CRESCIMENTO E ISOLAMENTO DOS MICRORGANISMOS

As placas de Petri contendo os microrganismos da casca da soja foram colocadas em estufa à 28° C, e após 5 dias, as amostras plaqueadas foram retiradas da estufa e resultaram no crescimento de vários microrganismos com aspecto filamentososo ilustrados nas Figuras 4, 5 e 6.

Figura 4 – Microrganismos da casca de soja degradadores de celulose em meio mineral com carboximetilcelulose.



Fonte: Autoria Própria

Figura 5 – Placas de Petri com diluições variadas das amostras da casca de soja em meio mineral com carboximetilcelulose.

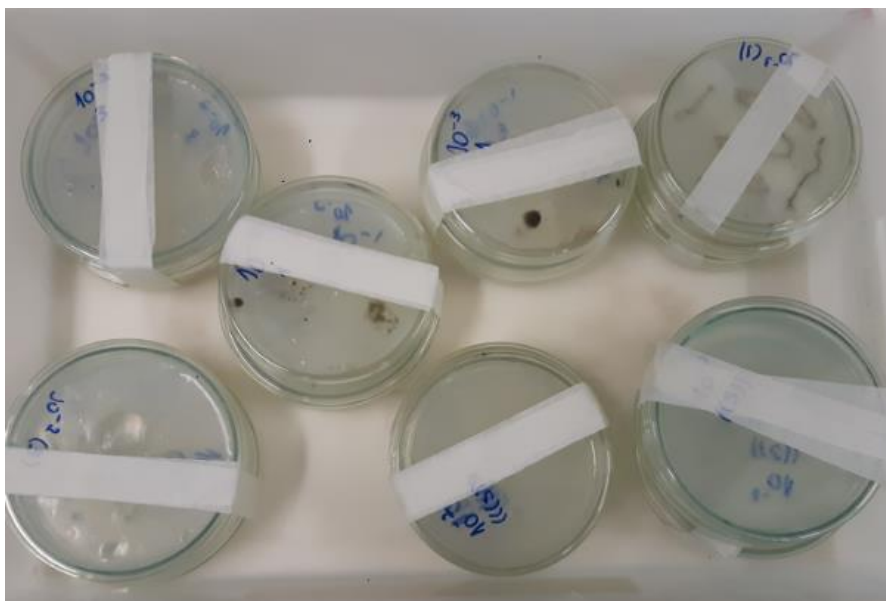
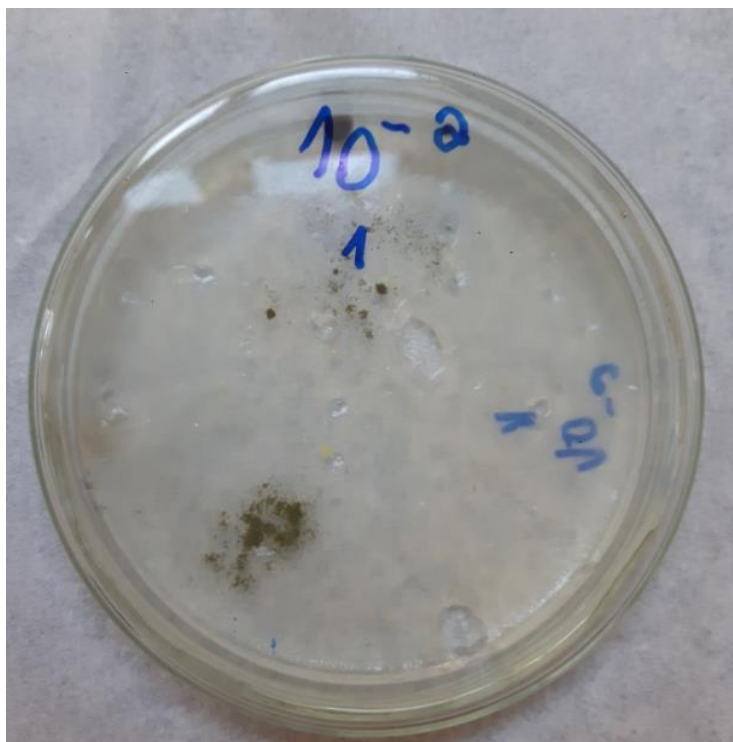


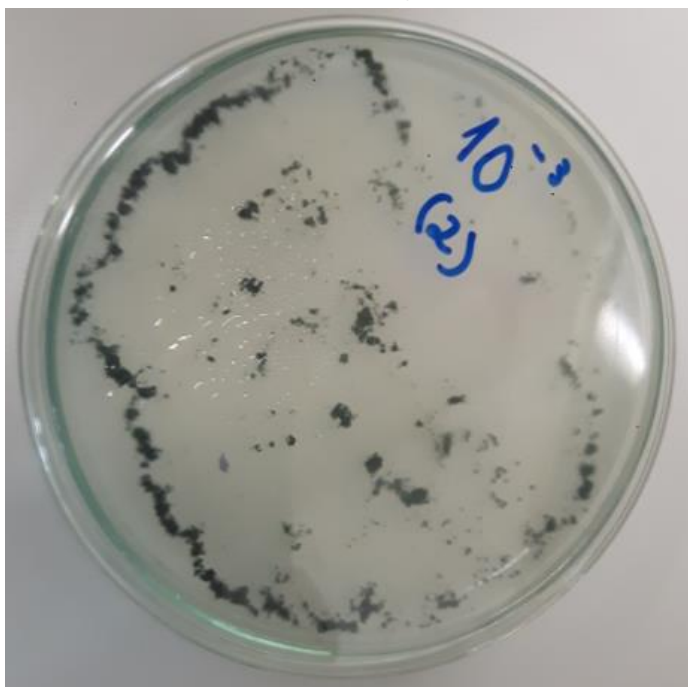
Figura 6 - Microrganismos da casca de soja degradadores de celulose em meio mineral com carboximetilcelulose.



Fonte: Autoria Própria.

Com os microrganismos inoculados nas placas de Petri em meio mineral com carboximetilcelulose, foi realizado o isolamento dos mesmos. Com o auxílio de uma haste metálica esterilizada, transferiu-se os microrganismos individualmente de uma placa para outra, aonde cada placa continha apenas uma espécie de microrganismo, conforme ilustrado nas Figuras 7, 8 e 9.

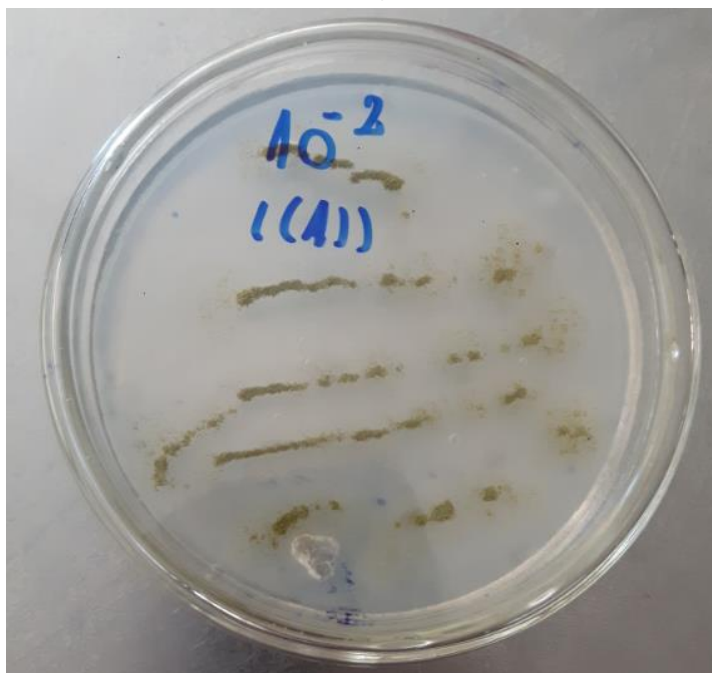
Figura 7 – Microrganismo isolado da casca de soja em meio mineral com carboximetilcelulose com coloração preta.



Fonte: Autoria Própria.

Foram isolados 3 espécies diferentes de microrganismos, e armazenados em meio mineral líquido com carboximetilcelulose para preservá-los com o objetivo de realizar mais testes posteriormente.

Figura 8 - Microrganismo isolado da casca de soja em meio mineral com carboximetilcelulose com coloração verde-clara.



Fonte: Autoria Própria.

Figura 9 - Microrganismo isolado da casca de soja em meio mineral com carboximetilcelulose com coloração verde-escura.



Fonte: Autoria Própria.

4.2 TESTE GRAVIMÉTRICO

O teste gravimétrico foi realizado nas amostras da casca de soja em triplicata de 30 e 40 dias, devido o maior tempo de degradação. Na Tabela 2, estão as massas da parte líquida das amostras antes de um período de 24h na estufa à 80° C e após esse procedimento, as concentrações e o rendimento.

Tabela 2 – Resultados da análise gravimétrica em triplicata das amostras da casca de soja de 30 e 40 dias de hidrólise.

Amostras	Concentração (g/L)	Massa Inicial (g)	Massa Final (g)	Rendimento (%)
30 dias 1	5,77	29,724	28,867	19,41
30 dias 2	5,96	30,588	29,784	19,48
30 dias 3	5,88	30,225	29,375	19,45
40 dias 1	5,84	30,048	29,223	19,44
40 dias 2	5,77	29,714	28,855	19,42
40 dias 3	5,74	29,570	28,698	19,41

Fonte: Autoria Própria

Analisando a Tabela 2 que possui os resultados do teste e a Figura 10 com as amostras antes e após o procedimento, foi possível observar uma redução na massa das amostras, devido à perda da umidade presente nelas. Assim, obteve-se a massa seca das amostras da casca de soja. Além disso, foi calculada a concentração de Massa Seca em gramas por litro e o Rendimento das amostras de 30 e 40 dias utilizando as Equações 2 e 3. Comparando os resultados do teste gravimétrico obtidos com os resultados de Gomes (2018), observou-se valores mais baixos de concentração das amostras e rendimento.

Figura 10 - Comparação dos cadinhos com a parte líquida das amostras da casca de soja antes (A) e após (B) a Gravimetria.



Fonte: Autoria Própria.

4.3 ANÁLISE DO PH

O teste do pH foi realizado nas amostras de 25, 30, e 40 dias em triplicata, aonde os resultados obtidos foram listados na Tabela 3.

Tabela 3 – Valores de pH, pH médio entre as triplicatas e desvio padrão entre as triplicatas das amostras de 25, 30 e 40 dias de hidrólise.

Amostras	pH	pH médio	Desvio Padrão
25 dias 1	8,75		
25 dias 2	8,70	8,68	0,062
25 dias 3	8,60		
30 dias 1	8,85		
30 dias 2	8,72	8,77	0,057
30 dias 3	8,74		
40 dias 1	9,08		
40 dias 2	8,73	9,19	0,42
40 dias 3	9,75		

Fonte: Autoria Própria.

Analisando os dados da Tabela 3, foi observado que todas as amostras são alcalinas, ou seja, todas possuem pH superior à 7. Os pHs das amostras variam na faixa de 8,60 à 9,75, aonde foi calculado o pH médio das amostras e o desvio padrão. Analisando o desvio padrão, as amostras mostraram pouca variação entre elas, apenas uma das amostras de 40 dias se divergiu das outras com um valor de pH de 9,75.

À respeito dos pHs básicos apresentados pelas suspensões, foi considerado um bom resultado, porque analisando os resultados de Gomes (2018), pode-se afirmar que as nanoestruturas da casca da soja podem ser bem dispersas, em solução aquosa, em qualquer faixa de pH, além disso, foram observados aglomerados menores em pH neutro e básico e aglomerados maiores para pH ácido.

4.4 ÍNDICE ENZIMÁTICO

Na determinação do índice enzimático, foram analisados três microrganismos com características fenóticas diferentes. Nas Figuras 11 e 12, estão as placas de Petri com meio mineral adicionado de carboximetilcelulose. Nestas figuras pode-se observar a cultura pura isolada da casca de soja, aonde foi medido o diâmetro do halo e da colônia para a realização do cálculo de índice enzimático. Com os resultados, foi confeccionada a Tabela 4 para melhor visualização dos dados obtidos.

Tabela 4 – Valores dos Índices Enzimático dos três microrganismos isolados da casca de soja.

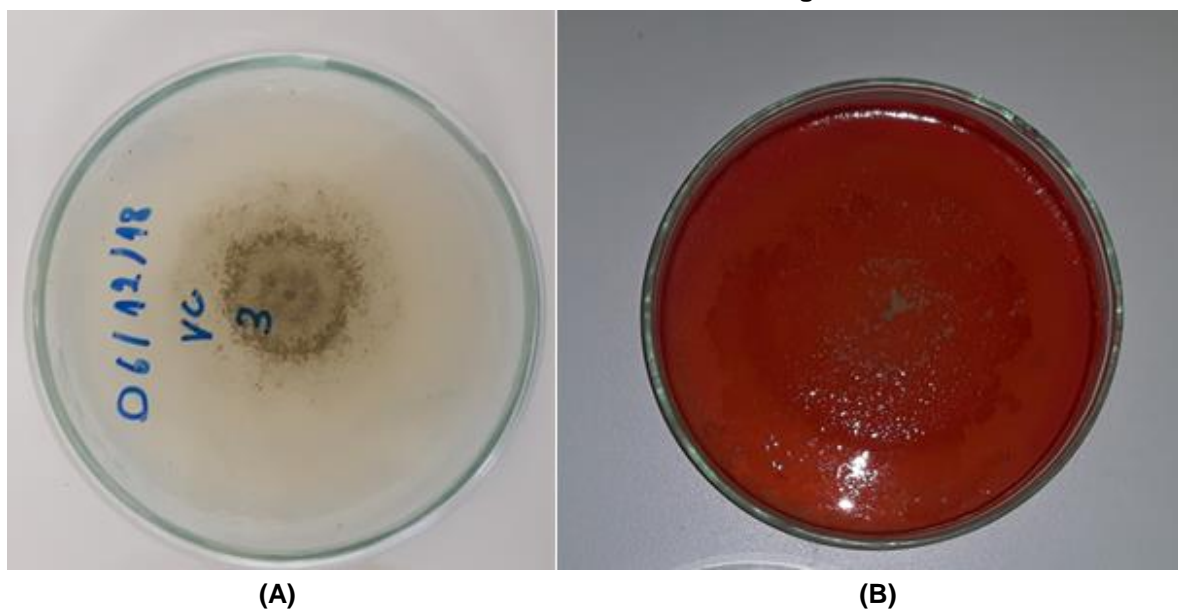
Microrganismos	Diâmetro do halo(cm)	Diâmetro da colônia(cm)	Índice Enzimático
Verde-claro (1)	7,5	6,4	1,172
Verde-escuro (2)	6,6	6,1	1,082
Preto (3)	6,3	5,7	1,105

Fonte: Autoria Própria.

Em relação ao índice enzimático, os três microrganismos analisados não apresentaram resultados satisfatórios, pois, de acordo com Fernandes

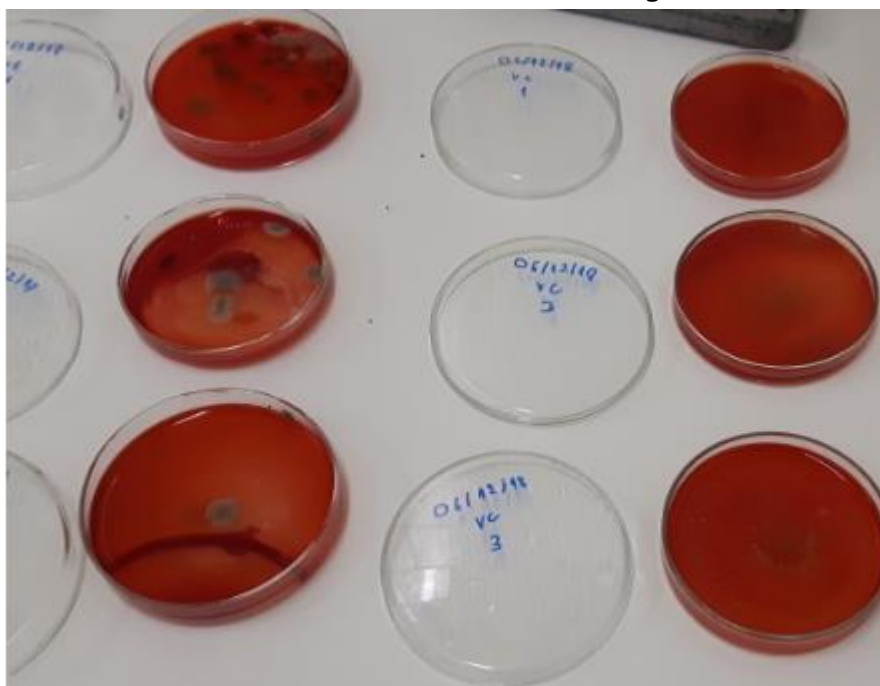
(2009), para ser considerado ideal para a hidrólise da celulose, obtendo bom rendimento, ele precisa apresentar índice enzimático maior que 2. Ou seja, os microrganismos analisados conseguem realiza a degradação da casca de soja, porém não são os mais eficientes para esse procedimento.

Figura 11 - Microrganismo desenvolvido em placa de Petri no meio mineral com carboximetilcelulose para determinação do índice enzimático: (A) sem indicador e (B) com o uso do indicador Vermelho do Congo.



Fonte: Autoria Própria

Figura 12 – Placas Petri com meio mineral apresentando diferentes tipos de microrganismos com o indicador Vermelho do Congo.



Fonte: Autoria Própria.

4.5 POTENCIAL ZETA

Depois de centrifugados, os tubos com as amostras se encontraram em duas fases, a líquida e a sólida. A parte líquida das amostras foi colocada em Ependorfs e enviada para análise do tamanho das partículas e potencial zeta no laboratório da Universidade Estadual de Ponta Grossa. Na Tabela 5 e nos Gráficos 1, 2, 3 e 4, estão os resultados das análises de potencial zeta e intensidade das amostras de 30 e 40 dias, com diluição de 100 vezes.

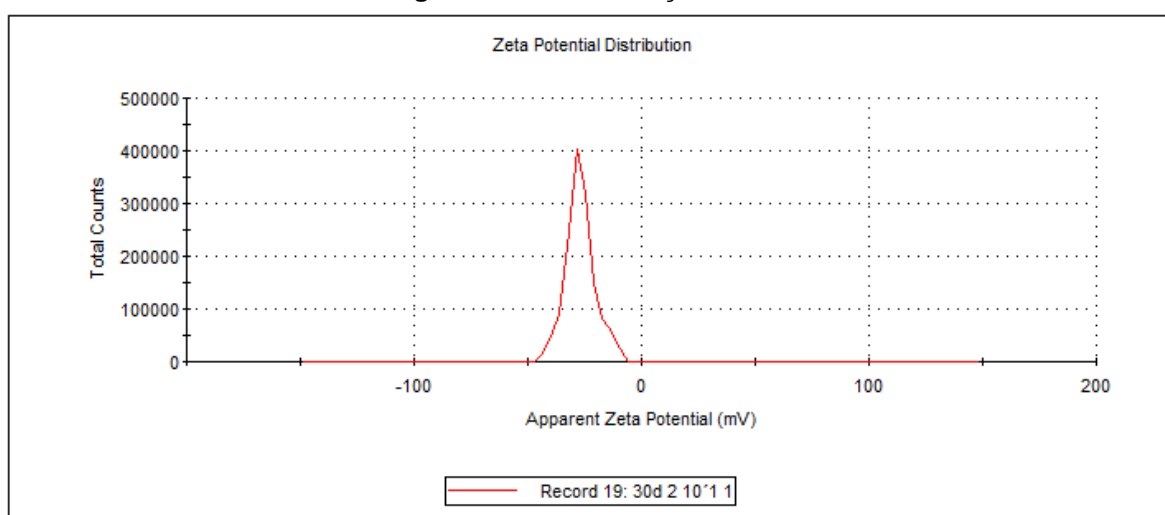
De acordo com Gomes (2018), quando se analisa fibras naturais, a suspensão é considerada estável com valores de potencial zeta superiores à 25 mV em módulo. Para valores inferiores a 25 mV em módulo, as partículas tendem a se aglomerarem atrapalhando os resultados do teste. Além disso, as suspensões de celulose devem apresentar uma distribuição de tamanho de partículas entre 100 e 600 nm, para que ocorra a presença de nanoestruturas.

Tabela 5 – Resultados do potencial zeta e tamanho das partículas das amostras da casca de soja de 30 e 40 dias de hidrólise.

Amostras	Potencial Zeta (mV)	Tamanho das partículas (nm)
30 dias	26,9	511,4
40 dias	18,5	352,8

Fonte: Autoria Própria.

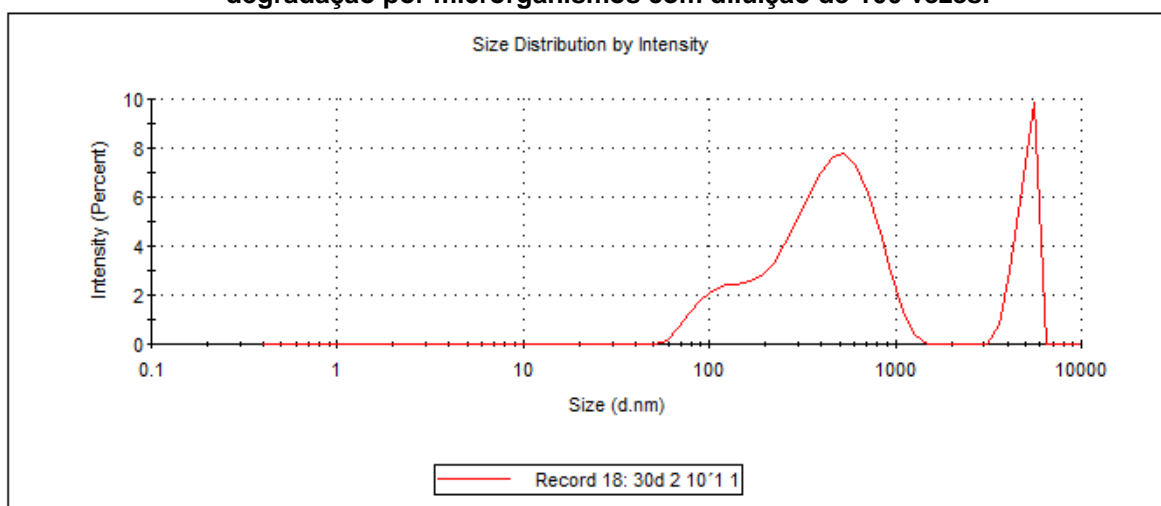
Gráfico 1 – Potencial zeta em amostra da casca de soja após 30 dias de degradação por microrganismos com diluição de 100 vezes.



Fonte: Autoria Própria.

No Gráfico 1 e na Tabela 5, foi observado que a amostra de 30 dias apresentou um potencial zeta de 26,9 mV em módulo, sendo assim, de acordo com Gomes (2018) foi considerada uma suspensão coloidal estável.

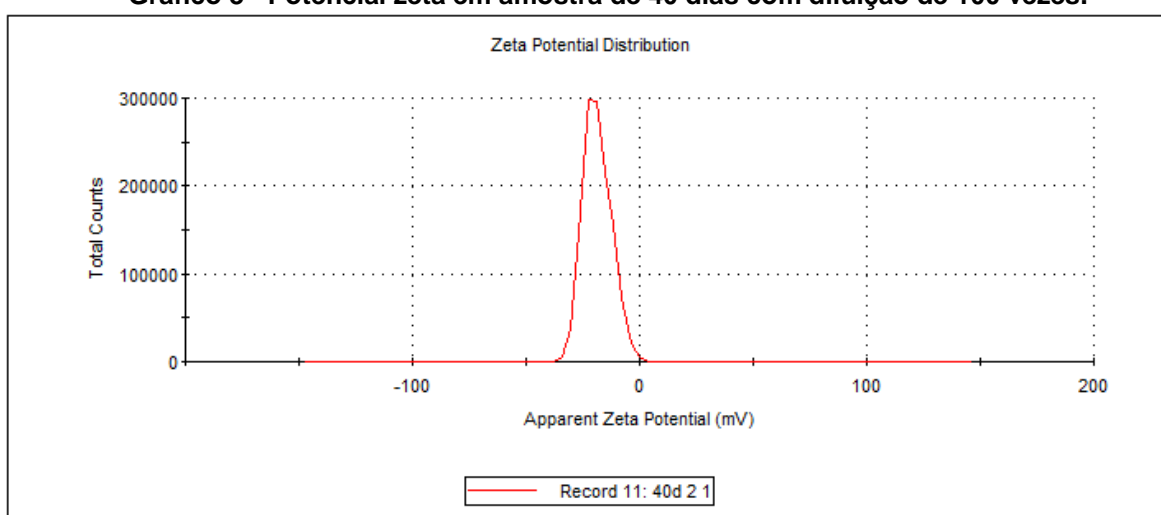
Gráfico 2 - Intensidade e tamanho de partículas em amostra de casca de soja após 30 dias de degradação por microrganismos com diluição de 100 vezes.



Fonte: Autoria Própria.

No Gráfico 2, foi observado partículas com o tamanho de 511,4 nm, confirmando a presença de nanoestruturas de celulose por estarem dentro da faixa de 100 à 600 nm.

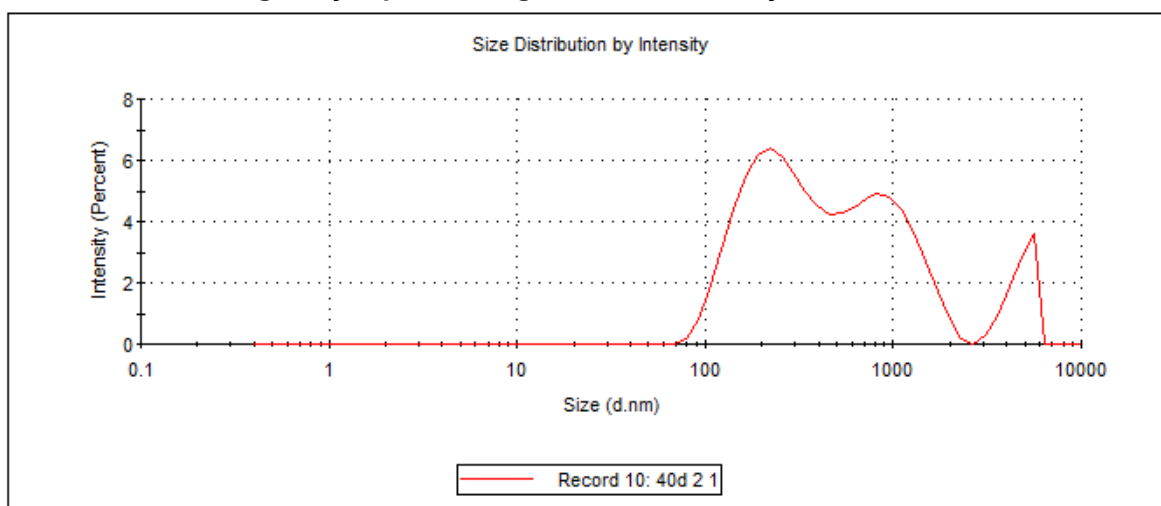
Gráfico 3 - Potencial zeta em amostra de 40 dias com diluição de 100 vezes.



Autoria Própria.

No Gráfico 3, observou-se que a amostra de 40 dias apresentou um potencial zeta de 18,5 mV em módulo, sendo assim, de acordo com Gomes (2018), foi considerada uma suspensão não muito estável, significando que as partículas estão aglomeradas, atrapalhando a obtenção de nanopartículas.

Gráfico 4 - Intensidade e tamanho de partículas em amostra de casca de soja após 40 dias de degradação por microrganismos com diluição de 100 vezes.



Fonte: Autoria Própria.

No entanto, a amostra de 40 dias apresentou bons resultados em relação ao tamanho das partículas após a degradação realizada pelos microrganismos contidos na própria casca estudada. Analisando o primeiro pico do Gráfico 4 da esquerda para direita, foi observado partículas com tamanhos de 352,8 nm, confirmando a presença de nanoestruturas de celulose por estarem dentro da faixa de 100 à 600 nm. Portanto, os resultados obtidos da degradação dos microrganismos contidas na casca de soja até o momento foram significativos e relatam a presença de nanopartículas.

5 CONCLUSÃO

De maneira geral, com os resultados obtidos, foi possível identificar as melhores condições para a realização da hidrólise enzimática. Em relação ao tempo de degradação, as amostras que permaneceram por mais tempo na estufa foram as que apresentaram melhores resultados. O pH de todas as amostras analisadas consta como alcalino, com pequeno desvio padrão, sendo considerado um bom resultado de acordo com a literatura.

O microrganismo que apresentou o melhor índice enzimático foi o de coloração verde-clara, se mostrando mais apto para realizar a hidrólise. Em futuros trabalhos, esse microrganismo pode ser fonte de produção de enzima e assim realizar uma degradação com concentração determinada de enzima, auxiliando na produção de nanopartículas com mais eficiência.

A respeito das nanopartículas, nas amostras de 30 e 40 dias diluídas, foi constatada a presença de partículas nano, o tamanho das partículas se apresentou dentro da faixa de 100 a 600 nm, confirmando a presença de nanocristais de celulose. Além disso, a amostra de 30 dias apresentou bons resultados na análise de potencial zeta, com um potencial de 26,9 mV em módulo, foi considerada uma suspensão estável.

REFERÊNCIAS

ALEXANDRE, M., DUBOIS, P. (2000). Polymer-layered silicate nanocomposites: preparation, properties and uses of a new class of materials. **Materials Science and Engineering**, v. 28(1-2), 1-63. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0927-796X\(00\)00012-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0927-796X(00)00012-7) >. Acesso em: 21 de maio de 2018.

ALMEIDA, A. C. S. et al. (2015). Aplicação de nanotecnologia em embalagens de alimentos. **Polímeros**. São Carlos, vol 25(numero especial), p. 89-97.

ANDRADE, T. C. C. et al. (2019). Hidrólise Enzimática de Celulose para Obtenção de Glicose Utilizando Líquido Iônico como Meio Solvente. **Rev. Virtual Quim.** Vol 11. No. 1, p.310-325.

BCC Research (2014). **Nanotechnology**: a realistic market assessment., Disponível em: <http://www.reportlinker.com/p096617-summary/Nanotechnology-A-Realistic-Market-Assessment.html>. Acesso em: 19 de maio de 2018.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: www.conab.gov.br. Acesso: 10 de junho de 2019.

COOPER, D.; SCHINDLER, P.,(2008). **Métodos de Pesquisa em Administração**. 7. ed. Porto Alegre: Bookman, 2008.

DEDAVID, B. A., GOMES, C. I., MACHADO G. (2007). **Microscopia eletrônica de varredura**: Aplicações e preparações de amostras. Porto Alegre: ediPUCRS, 2007, p. 9.

FERNANDES, A. P., (2009). Avaliação do potencial enzimático de fungos filamentosos isolados de diferentes fontes. Lavras: UFLA, 58p., 2009.

FERREIRA, C. M., (2003). A importância da água e sua utilização em ranários comerciais. **Panorama da Aqüicultura**. nº 79, vol. 13, p. 15-17, 2003.

FERREIRA, H. S., RANGEL, M. C. (2009). Nanotecnologia: aspectos gerais e potencial de aplicação em catálise. **Quím. Nova**. São Paulo. v.32, n.7, p. 1860-1870, 2009.

FISCHER, V.; MÜHLBACH, O.R.F. (1999). Substituição do grão de milho por casca de soja no desempenho de novilhas de corte confinadas. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**. v.5, n.1, p.143- 148, 1999.

GOMES, K. A. A. Estudo do efeito do ph e da adsorção de surfactante catiônico na redispersão de nanocristais de celulose em água. 2018, 101f. Dissertação Mestrado em Engenharia e Ciência de Materiais), Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2018.

GOMES, I. A.; ALCOVER NETO, A. Decomposição de amostras sólidas: determinação de sílica total por gravimetria. In: Jornada do Programa de Capacitação Interna do CETEM, 4. Rio de Janeiro: CETEM/MCTI, 2015.

IPHARRAGUERRE, I.R.; SHABI, Z.; CLARK, J.H.; FREEMAN, D.E.,(2002) Ruminal fermentation and nutrient digestion by dairy cows fed varying amounts of soyhulls as a replacement for corn grain. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.2890-2904, 2002.

JORGE, A. O. C., UENO, M., (2002). Comparação de técnicas moleculares de análise de DNA cromossomal de staphylococcus aureus resistentes à meticilina. **Rev. Biociênc.** Taubaté, v.8, n.2, p.43-50, 2002.

MARCHINI, C.F.P.; SILVA, P.L; NASCIMENTO, M.R.B.M. *et al.* Morfometria da mucosa duodenal em frangos de corte submetidos à temperatura ambiente cíclica elevada. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** V.61, p.491-497, 2009.

MORAIS, J. B. *et al.*(2006). Comportamento ingestivo de ovinos e digestibilidade aparente dos nutrientes de dietas contendo casca de soja. **Pesq. Agropec. Bras.** Brasília, v.41, n.7, p.1157-1164, 2006.

MOREIRA *et al.*, (2009). Avaliação nutricional da casca de soja com ou sem complexo enzimático na alimentação de leitões na fase inicial. **R. Bras. Zootec.**, v.38, n.12, p.2408-2416, 2009.

MURITO, M; FINETE, V. Fundamentos em química experimental. v.1. Rio de Janeiro: Editora: EPSJV, 2010.

OGEDA, T.; PETRI, D. Hidrólise Enzimática de Biomassa. **Quim. Nova.** São Paulo. V. 33, n 7. p. 1549-1558, 2010.

PEREIRA, V. M., (2012). Avaliação do potencial enzimático de fungos filamentosos e otimização da produção de celulases por *Aspergillus sulphureus* (Fresen.) Wehmer. 2012.

PISCOPO, M. R. et al., (2014). O setor brasileiro de nanotecnologia: Oportunidades e desafios. **Revista de Negócios**. Vol. 19, n. 4, p. 43-63, 2014.

RAWAT, M.; SINGH, D.; SARAF, S.; SARAF, SW. Nanocarriers: Promising vehicle for bioactive drugs. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 29, 2006, p. 1790-1798.

RESTLE, J.; FATURI, C.; ALVES, D.C.F. et al. Substituição do grão de sorgo por casca de soja na dieta de novilhos terminados em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.4, p.1009-1015, 2004.

SCHAFFAZICK, S. R. et al. (2003). Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. *Quim. Nova*. Porto Alegre, Vol. 26, No. 5, p. 726-737, 2003.

SEKHON, B. S. (2014). Nanotechnology in agri-food production: an overview. **Nanotechnology, Science and Applications**, 7, 31-53. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2147/NSA.S39406>. Acesso em: 20 de maio de 2018.

SILVA, B. A. N., (2004). A casca de soja e sua utilização na alimentação animal. *Revista Eletrônica Nutritime*, v.1, nº1, p.59-68, julho/agosto de 2004. Disponível em: <https://scholar.google.com.br/> Acesso em: 26 de maio de 2018.

SILVA, L. D. et al. (2002). Digestão total e parcial de alguns componentes de dietas contendo diferentes níveis de casca de soja e fontes de nitrogênio, em bovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*. v.31, n.3, p.1258- 68, 2002.

SOUTO, E. B., SEVERINO, P., SANTANA, M. H. A., (2011). Preparação de Nanopartículas Poliméricas a partir da Polimerização de Monômeros - Parte I. *Polímeros*, 9 jul. 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/> Acesso em: 25 de maio de 2018.

SOUZA, P. M. S. et al. (2012). Desenvolvimento de nanocápsulas de poli-ε-caprolactona contendo o herbicida atrazina. *Química Nova*, vol. 35, N. 1, p. 132-137, 2012.

TAMEN, B.S.T., OKSMAN, K. Investigation of the structure of cellulose whiskers and its nanocomposites by TEM, SEM, AFM and X-ray diffraction. In: 8th Int. Conference on WPC. Madison, May 2005.

TIBOLLA, H. (2014). **Produção de nanofibras de celulose por hidrólise enzimática**: Campinas, 2014. Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. São Paulo. 2014.

TIBOLLA, H. et al., (2014). Produção de nanofibras de celulose a partir da casca de banana por hidrólise química e enzimática. **Congresso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos**. Cibia9, p. 13–16, 2014.